· 经验交流 ·

小儿先天性心脏病与人巨细胞病毒感染的关系探讨

丁艳,熊昊,王竟春

(武汉市儿童医院内科,湖北·武汉 430016)

[中图分类号] R541.1.R373 [文献标识码] D [文章编号] 1008-8830(2002)05-0411-02

人巨细胞病毒(HCMV)是人类先天性感染的主要病原,传递方式多为母婴垂直传播,先天性HCMV感染可导致流产、胎儿宫内生长迟缓、死胎、早产、生后夭折等,甚至造成婴幼儿智力低下、精神运动发育迟缓等严重后果^[1],但其与小儿先天性心脏病(CHD)的关系,目前尚少见报道。本文采用病例对照研究,用免疫组化试管法检测抗CMVSPTM阳性细胞,初步探讨CHD与HCMV之间的关系。

1 对象和方法

1.1 对象

先天性心脏病患儿52例,男29例,女23例。为1997年1月至2001年4月间本院住院患儿,均经病史、体检、X线胸片、心电图、彩色多普勒超声心动图检查证实,其中12例行心导管检查确诊。年龄<28d 10例,<1岁27例,1~3岁9例,>3岁6例,其中室间隔缺损22例,动脉导管未闭6例,法乐四联征7例,房间隔缺损9例,其它8例。对照组为非心血管疾病患儿65例,系同期住院治疗的急性呼吸道感染病人,均经病史、体检、X线胸片、心电图、彩色多普勒超声心动图检查排除心血管疾病,同时排除黄疸、先天畸形、智力低下等疾患。其中男37例,女28例,年龄<28d 12例,<1岁34例,1~3岁11例,>3岁8例。

1.2 标本采集

送检标本为患儿及母亲12h新鲜尿液。

1.3 检测方法

1.3.1 主要试剂 鼠抗CMV(1:50 PBS稀释),美国ZYMED公司生产,全称为过氧化物酶标记的链霉卵白素染色试剂盒(简称SPTM)。

1.3.2 操作方法 送检尿液静置2h以上(夏季置于冰箱),倾去上清液并保留30~50ml,用尖底试管离心沉淀后,倾去上清液,收集沉淀于二只试管中,用玻棒取其中1只试管中的沉淀涂片、HE染色,另1只试管内加3%过氧化氢(以下简称封口),前1只试管置37℃温箱10min,然后蒸馏水离心洗涤及PBS洗涤,倾去上清液,加5%山羊血清混匀,室温下静置10min,离心并倾去上清液,加入一抗(鼠抗CMV)混匀,封口膜封住试管口,置于冰箱(4℃)过夜或37℃温箱孵育30min,然后PBS离心洗涤,倾去上清液,加入二抗(鼠抗IgG)混匀(封口)置于37℃温箱30min,离心后倾去上清液,再用PBS离心洗涤并倾去上清液,加入S-P/HRP(链霉卵白素),混匀封口,置于37℃温箱30min,PBS离心洗涤,倾去上清液,收集管底全部沉淀物集中涂片1张(载玻片上涂有APES防脱片剂);于60℃温箱内烘干,DAB显色,流水冲洗5min,苏木素淡染胞核、返蓝、脱水、透明中性树脂胶封片。光镜下观察,抗CMVSPTM阳性细胞染黄或棕黄色,背景清晰。阳性对照片:取尸检全身CMV感染病例的内脏切片。

1.4 统计学方法

采用卡方检验。

[收稿日期] 2002-01-06; [修回日期] 2002-05-12
[作者简介] 丁艳(1970-),女,大学,主治医师,在读硕士研究生。

2 结果

结果显示 52 例 CHD 患儿的抗 CMV SPTM 阳性 23 例,阳性率 44.23%,65 例对照组患儿抗 CMV SPTM 阳性 10 例,阳性率 15.38%。病例组阳性率高于对照组,经卡方检验,二者的差异有显著性意义($\chi^2 = 11.87, P < 0.05$)。

先心病患儿的母亲抗 CMV SPTM 阳性 21 例,阳性率 40.38%,对照组患儿母亲阳性 9 例,阳性率 13.85%,前者阳性率高于后者,差异有显著性意义($\chi^2 = 10.67, P < 0.05$)。

3 讨论

免疫组化试管法是采用已知的抗体(鼠抗 CMV)检测标本中存在的 CMV 抗原的一种方法,若光镜下见到抗 CMV SPTM 阳性细胞,表明患儿体液中存在 CMV 抗原,有 CMV 感染的证据。文献报道检测 CMV 的方法常有 ELISA 法检测血 CMV-IgM, IgG; PCR 法检测血或尿、唾液中 CMV-DNA。但由于间接 ELISA 法对 HCMV-IgM 常不易检出或受类风湿因子的影响而产生假阳性,使其敏感性、特异性不能满足临床要求。当然,病毒分离是诊断 HCMV 活动性感染最敏感、最可靠的方法,但该法费时费力,不利于病人的诊断及治疗。用免疫组化试管法测定 HCMV 抗原在收到标本后 2 d 内即可得到结果,比病毒分离更敏感、更迅速,有利于病人的诊断及治疗。

CHD 是常见的小儿先天性畸形,由于胎儿的心脏在母体内发育有缺陷或部分停顿所造成,多数病因不明,目前认为与遗传因素和环境因素有关,前者包括染色体异常和单基因突变,后者包括宫内感染(尤其是母亲妊娠 3 个月左右的病毒感染)和孕期服药、孕期接触放射线等。有文献报道^[2]宫内病毒感染以风疹病毒最多,以后随着对 HCMV 认识的深入,对孕妇 HCMV 活动性感染引起胎儿宫内感染导致对胎儿的危害越来越引起人们的重视。HCMV 可引起人类各种疾病,其中危害最大的人群是婴儿和免疫缺陷患者,人们发现 HCMV 感染是最常见的母婴传播性疾病,孕妇 HCMV 感染可传递给胎儿引起先天性巨细胞包涵体病,常见症状有黄疸、肝脾肿大、小头畸形及智力低下等。许多文献报道^[3,4] HCMV 感染是引起小儿先天性畸形的主要原因之

一,可引起耳聋、失明、智力低下、运动障碍、腭裂、手足畸形、多囊肾、胆管闭锁等,但 HCMV 感染导致 CHD 的报道较少^[5]。

本文采用免疫组化试管法检测抗 CMV SPTM 阳性细胞,结果表明 CHD 组 HCMV 感染率高于对照组,说明 CHD 的发病与 HCMV 感染有关。其机制尚需进一步探讨,CHD 患儿母亲的 HCMV 感染率亦高于对照组母亲,表明 HCMV 引起 CHD 可能与母孕期 HCMV 活动性感染垂直传播给胎儿有关。董兆文^[6]曾对孕妇血清中 HCMV 抗体(IgM)与其流产的绒毛中 HCMV 抗原检测进行了对照,其结果显示二者之间有高度的一致性,说明母婴之间存在垂直传播。国内报道^[6] HCMV 孕期活动性感染给子代的危险性为 22.4%,国外报道^[7]孕早期宫内 HCMV 感染率为 20%,两数值相近。由此可见,一旦发生孕期 HCMV 感染很容易引起胎儿损害。孕妇较普通妇女的 HCMV 活动性感染的机会更多一些,可能由于孕期内分泌的机能和代谢的改变,以及孕期母体为保护胎儿而呈暂时性的免疫低下状态,可以激活潜伏在孕妇体内的 HCMV,从而成为活动性感染。因此,在妇幼卫生保健工作中,必须加强防治 HCMV 感染的各种措施,开展孕期血清流行病学监测,尽快研制 HCMV 减毒活疫苗,必要时中止妊娠,对降低 CHD 的发病率具有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] Charles A, Stagno S, Robert F, et al. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections [J]. *Rev Infect Dis*, 1990, 12(Suppl): 745 - 747.
- [2] Lin AE. Congenital heart defects in malformation syndrome [J]. *Clin Perinatal*, 1990, 17(3): 641 - 642.
- [3] Wu TC, Hruban RH, Ambinder RF, et al. Demonstration of cytomegalovirus nucleic acids in the coronary arteries of transplanted hearts [J]. *Am J Pathol*, 1992, 140(3): 739 - 747.
- [4] Nuavo GJ, Gallery P, MacConnell P, et al. An improved technique for in situ detection of DNA after PCR amplification [J]. *Am J Pathol*, 1991, 139(12): 1239 - 1240.
- [5] Katz VL, Bowes WA Jr. Maternal disease affecting the fetal cardiovascular system. In: Long WA eds. *Fatal and neonatal cardiology* [M]. Philadelphia: Saunders, 1990, 134 - 145.
- [6] 董兆文. 利用孕早期人胚绒毛组织进行先天性巨细胞病毒感染诊断的研究 [J]. *遗传*, 1992, 1(1): 40.
- [7] Yow MD. Congenital cytomegalovirus disease: A new problem [J]. *Infect Dis*, 1989, 15(2): 163 - 165.

(本文编辑 吉耕中)